



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Copper complexes as biomimetic models of catechol oxidase: mechanistic studies

Koval, I.A.

Citation

Koval, I. A. (2006, February 2). *Copper complexes as biomimetic models of catechol oxidase: mechanistic studies*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4295>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4295>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting

Dit proefschrift behandelt de synthese van koper(II)complexen die beschouwd kunnen worden als modelverbindingen van de active site van catecholoxidase en het mechanisme van de katalytische oxidatie van catechol door deze verbindingen. Catecholoxidase is een type-3 kopereiwit, aanwezig in planten en sommige schaaldieren, dat de oxidatie van verschillende catecholen (*o*-diphenolen) tot de respectievelijke chinonen katalyseert. De chinonen worden vervolgens gepolymeriseerd, wat resulteert in de vorming van het pigment melanine. Deze reactie is bedoeld om beschadigd weefsel tegen verschillende pathogene invloeden te beschermen. Type-3 kopereiwitten, die behalve catecholoxidase ook het eiwit hemocyanine en het enzym tyrosinase bevatten, zijn bekend door hun eigenschappen om moleculaire zuurstof te activeren en zijn toe te passen brengen onder gewone omstandigheden.¹ Vanwege hun mogelijke gebruik als oxidatiekatalysatoren in milieuvriendelijke industriële processen is de synthese van modellen van deze eiwitten en onderzoek naar de mechanismen van hun katalytische activiteiten een zeer interessant onderwerp.

Hoofdstuk 1 is een algemene beschouwing van de modelverbindingen van catecholoxidase, die in de literatuur gerapporteerd zijn, en de verschillende manieren van diverse auteurs om het mechanisme van de katalytische reactie. Hoofdstuk 2 beschrijft de synthese van het dinucleaire fenolgebaseerde ligand Hpy3asym, dat ontworpen is om de asymmetrische omgeving van de twee koperionen in de active site van catecholoxidase na te bootsen, en het dinucleaire complex ervan $[\text{Cu}_2(\text{py3asym})(\text{H}_2\text{O})_{1.5}(\text{NO}_3)_2]\text{NO}_3$. Het ligand bevat een tridentaat en een didentaat arm verbonden met de 2 en 6 posities van de fenolring, om een asymmetrische coördinatie nummering te verkrijgen voor de koper(II)complexen ervan. De ontwikkelde strategie voor de synthese van dit ligand kan ook succesvol worden toegepast voor het genereren van andere asymmetrische op fenol gebaseerde liganden.²

Hoofdstuk 3 rapporteert over de structuren en eigenschappen van zes nieuwe complexen van Cu^{II} , Co^{II} en Mn^{II} met het op fenol gebaseerde ligand Hpy2ald, dat een tridentaat pyridinebevattende arm heeft op de 2' positie en een formylgroep op de 6' positie van de fenolring. Vanwege de aanwezigheid van een zwak donerende formylgroep in het ligand bleek dat de structuren van de resulterende complexen sterk afhangen van de donoreigenschappen van de tegenionen. Kortom, het gebruik van metaalzouten met zwak-coördinerende anionen zoals perchloraat en tetrafluorboraat leiden tot de vorming van dinucleaire complexen met een metaal-ligandverhouding van 2:2, waarin twee metaalionen dubbel gebrugd zijn door zuurstofatomen van de gedeprotoneerde fenolgroepen van twee verschillende liganden. De aanwezigheid van sterkere donoren, zoals nitraat, bromide of chloride, voorkomt de coördinatie van de zwakker donerende formylgroep, wat resulteert in metaalcomplexen met vrij verschillende structuren, waarbij de formylgroep niet coördineert aan de metaalionen.

Hoofdstuk 4 beschrijft de bereiding van het symmetrische op fenol gebaseerde ligand Hpy2th2s, dat de functionele groepen pyridine en thiofeen bevat. Dit ligand was ontworpen om de aanwezigheid van de ongebruikelijke thioethergroep bij de active site van catecholoxidase na te bootsen, resulterend in de aanwezigheid van een niet-coördinerend zwafeltroom in de nabijheid van de metaalcentra. Twee koper(II)complexen met dit ligand zijn gemaakt en structureel, spectroscopisch en magnetisch gekarakteriseerd: $[\text{Cu}_2(\text{py2th2s})\text{Cl}_3]$ en $[\text{Cu}_2(\text{py2th2s})\text{Br}_3]$. In deze kopercomplexen zijn beide koperionen vijfvoudig gecoördineerd en dubbel gebrugd door het zuurstofatoom van de gedeprotoneerde fenolgroep en een halogeen anion. De complexen vertonen geen catecholaseactiviteit, waarschijnlijk vanwege de aanwezigheid van de sterk coördinerende halogeen anionen die bruggend binden tussen de metaalcentra. De onderzoeken naar de interactie van deze complexen met het modelsubstraat tetrachloorcatechol (TCC) wijzen erop dat de bruggende liganden inderdaad niet vervangen kunnen worden door het aanwezige catecholaat, hoewel in het geval van het chloridecomplex één van de apicale halogeen anionen gesubstitueerd wordt door TCC. Deze resultaten benadrukken het belang van de bruggende liganden voor de catecholaseactiviteit van de dikoper(II)complexen, omdat de mogelijkheid van deze liganden om vervangen te worden door het substraat een van de cruciale eisen zijn voor katalytische activiteit.

In hoofdstuk 5 wordt de synthese van het asymmetrische ligand Hpy2th1as (Figuur 9.1, d), met een thiofeenring aan een van de armen, gerapporteerd. Twee koper(II)complexen met dit ligand, $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{py2th1as})\text{Cl}_2](\text{CuCl}_4)_2$ en $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{py2th1as})\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_4 \cdot 6\text{CH}_3\text{OH}$, zijn geïsoleerd en structureel gekarakteriseerd. Ondanks de grote overeenkomsten tussen de twee verbindingen, het grootste verschil is een ander anion, verschillen de twee coördinatieverbindingen structureel significant. Dit duidt op de belangrijke invloed van het anion op de kristalstapeling.

Hoofdstukken 6–8 behandelen de structuren van Cu^{II} en Cu^{I} complexen met twee N-donor macrocyclische liganden [22]py4pz en [22]pr4pz, die respectievelijk twee N_4 en twee N_3 donor sets verschaffen voor de metaalcoördinatie, en beschrijven het mechanisme van de catecholoxidatie van de koper(II)complexen met deze liganden. Hoofdstuk 6 beschrijft tevens gedetailleerde paramagnetische ^1H NMR spectroscopie-studies van het hydroxygebrugde dikoper(II)complex met het macrocyclische ligand [22]py4pz.

Het mechanisme van de oxidatie van 3,5-di-*tert*-butylcatechool (DTBCH₂) door het hydroxygebrugde dikopercomplex $[\text{Cu}_2([\text{22}]py4pz)(\mu\text{-OH})](\text{ClO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ is onderzocht door het bestuderen van elke afzonderlijke stap in de katalytische cyclus. In de eerste fase leidt de stoichiometrische reactie van het complex en het substraat, in anaerobe condities, tot het loslaten van een equivalent chinon en de vorming van een dikoper(I)complex. Zuurstofbinding aan het laatste complex resulteert in de vorming van een trans- μ -1,2-peroxo-dicopper(II) verbinding dat een tweede catecholmolekuul

oxideert en weer het originele hydroxo-gebrugde dikoper(II)complex vormt. Deze laatste reactie bleek in twee successievelijke stappen te verlopen: Ten eerste leidt een protonverhuizing van het substraat naar de peroxo kern tot de vorming van een zeer reactief intermediair dat, op basis van het Raman, UV-Vis en EPR-spectroscopie, verondersteld wordt een hydroperoxo-dikoper(II) complex te zijn. Ten tweede wordt het gebonden catecholaat geoxideerd door het hydroperoxodeel, gecombineerd met de reductie van het peroxide tot water. Het algemene mechanisme van de katalytische reactie is erg vergelijkbaar met het mechanisme voor catecholoxidase, dat eerder is voorgesteld door Krebs,³ hoewel de structuur van het peroxo-dikoper(II) intermediair deeltje zeer waarschijnlijk verschilt, omdat een $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ peroxo-dikoperintermediair is voorgesteld voor het natuurlijke enzym. Dit is ook het eerste voorbeeld van catecholoxidatie door trans- μ -1,2-peroxo-dikoper(II) deeltjes.

Hoofdstuk 8 behandelt het mechanisme van de catecholaseactiviteit van het dikoper(II)complex $[\text{Cu}_2([\text{22}]p\text{r}4p\text{z})(\text{CO}_3)(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ in methanol. Gedurende de eerste paar minuten van de katalytische reactie wordt de substraatoxidatie vergezeld door de vorming van waterstofperoxide, hoewel dat snel stopt. De anaerobe interactie van het complex met catechol duidt erop dat in plaats van een twee-elektronreductie van het dikoper(II)kation, dat leidt tot een chinon en een koper(I)complex, slechts één elektron is overgedragen in de stoichiometrische reactie, resulterend in de vorming van het $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}$ -semichinondeeltje. De oxidatie van de laatste verbinding door dizuurstof leidt tot de vorming van een molaire equivalent chinon en een molaire equivalent waterstofperoxide. Kortom, het complex gedraagt zich in het begin als een mononucleair koper(II)deeltje, met slechts een koperion deelnemend in het redoxproces, terwijl de andere alleen een structurele rol speelt. Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de lange koper-koperafstand in het macrocyclische ligand, dat het simultaan binden van catechol op een didentaatgebrugde wijze aan beide koper(II)ionen onmogelijk maakt.

De vorming van waterstofperoxide stopt echter na een paar minuten, wat suggereert dat een ander mechanisme plaatsvindt in een latere fase van de katalytische reactie, zeer waarschijnlijk vergelijkbaar met het mechanisme dat is voorgesteld door Krebs en medewerkers voor het natuurlijke enzym.³ Deze aanname wordt ook bevestigd door het onderdrukkende effect van het oxidatieproduct 3,5-di-*tert*-butylbenzochinon (DTBQ) op de katalytische reactie, wat erop duidt dat dit product zich niet gewoon ophoopt in het reactiemengsel, maar ook deelneemt in het katalytische proces. Omdat DTBQ snel kan reageren met het gereduceerde dikoper(I)complex, en dit reoxideert tot het gemengde valentie $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}$ -semichinondeeltje, is dit een waarschijnlijke reden van het onderdrukkende gedrag. De vorming van dikoper(I)deeltjes kan op zijn beurt alleen worden verklaard door de mechanistische route die is voorgesteld door Krebs en zijn medewerkers.³ Kortom, twee verschillende mechanistische routes worden in dit geval gerealiseerd, wat aantoont dat de catecholoxidatie door model koper(II)complexen een

ingewikkeld proces kan zijn. Deze bevindingen verklaren tevens het mechanisme van de vorming van waterstofperoxide als bijproduct van catecholoxydatie en wijzen erop dat de koper-koperafstand een substantiële rol speelt in het katalytische mechanisme: een korte afstand maakt het mogelijk dat catechol bindt op een didentaat bruggende wijze waardoor dit verder kan oxideren via het mechanisme vergelijkbaar met datgene dat is waargenomen voor $[\text{Cu}_2([\text{22}]py_4pz)(\mu\text{-OH})](\text{ClO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, terwijl een lange afstand resulteert dat catechol alleen aan één van de koper(II)ion bindt, met de vorming van het semichinon en een daaropvolgende reductie tot waterstofperoxide.

Referenties

- (1) Solomon, E. I.; Sundaram, U. M.; Machonkin, T. E. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 2563-2605.
- (2) Huisman, M.; Koval, I. A.; Gamez, P.; Reedijk, J. *Inorg. Chim. Acta* **2005**, in press.
- (3) Klabunde, T.; Eicken, C.; Sacchettini, J. C.; Krebs, B. *Nat. Struct. Biol.* **1998**, 5, 1084-1090.